

EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE *Jatropha curcas* L., *Oecopetalum mexicanum* Y *Pistacia vera*

ENZYMATIC EXTRACTION OF OIL FROM *Jatropha curcas* L., *Oecopetalum mexicanum* AND *Pistacia vera*

Ovando-Chacón, S.L.^{1*}; Nolasco-Arroyo, B.¹; Abud-Archila, M.A.¹; Ovando-Chacón, G.¹

¹Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Carretera Panamericana, km 1080. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. ²Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Veracruz. Calzada Miguel Ángel de Quevedo No. 2779. Veracruz, Veracruz, México.

*Autor de correspondencia: ovansandy@hotmail.com; slovando@ittg.edu.mx

ABSTRACT

The effect of the solid: liquid ratio (1: 3, 1: 4, 1: 5 and 1: 6) on the extraction of the oil of cacaté (*Oecopetalum mexicanum*), piñon (*Jatropha curcas*) and pistachio (*Pistacia vera*) using Viscozyme L for 4 hours and the kinetics of the oil extraction process were obtained during 7 hours with sampling every 30 min. The results showed that the solid: liquid ratio had a significant statistical effect ($P \leq 0.05$) on the extraction yields of the oil, observing that for the three seeds the ratio 1: 5 allowed a higher yield in the oil extraction, being these 52, 46, 11% for cacaté, piñon and pistachio, respectively. In relation to the extraction kinetics, they followed a typical behavior, obtaining the maximum percentages of extraction around 6 and 7 h.

Keywords: *Jatropha curcas*, *Oecopetalum mexicanum*, hydrolytic enzymes, oil.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la relación sólido:líquido (1:3, 1:4, 1:5 y 1:6) sobre la extracción del aceite de cacaté (*Oecopetalum mexicanum*), de piñón (*Jatropha curcas*) y de pistacho (*Pistacia vera*) empleando Viscozyme L durante 4 horas y se obtuvieron las cinéticas del proceso de extracción del aceite durante 7 horas con muestreo cada 30 min. Los resultados mostraron que la relación sólido:líquido tuvo un efecto estadístico significativo ($P \leq 0.05$) sobre los rendimientos de extracción del aceite, observándose que para las tres semillas la relación 1:5 permitió un mayor rendimiento en la extracción del aceite, siendo estos 52, 46, 11% para cacaté, piñón y pistacho, respectivamente. En relación a las cinéticas de extracción estas siguieron un comportamiento típico, obteniéndose alrededor de las 6 y 7 h los máximos porcentajes de extracción.

Palabras clave: *Jatropha curcas*, *Oecopetalum mexicanum*, enzimas hidrolíticas, aceite.

INTRODUCCIÓN

El método de extracción del aceite de semillas oleaginosas es un proceso determinante para maximizar rendimientos. En la actualidad existen dos métodos de extracción de aceite: mediante solventes y por prensado, los cuales pueden afectar directamente el rendimiento de extracción de aceite y su calidad (Sant'Anna et al., 2003), así como la calidad de la harina residual (Taha y Hassanein, 2007). A pesar de ser ampliamente usados en la industria (Guerra y Zúñiga, 2003; Sant'Anna et al., 2003; Taha y Hassanein, 2007; De Moura et al., 2008; Latif y Anwar, 2008), estos métodos pueden demeritar las características del aceite, y ocasionar problemas en la seguridad industrial y ambiental debido a los solventes usados (Taha y Hassanein, 2007; Latif y Anwar, 2008). Dentro de los solventes de mayor uso en este proceso destaca el hexano, y debido a las implicaciones ambientales, de seguridad industrial y salud humana se han buscado nuevas alternativas ecológicas de extracción (Latif y Anwar, 2008; Mojtaba y Fardin, 2013).

La extracción con fluidos supercríticos y el uso del agua-enzimas como agente ecológico de extracción están surgiendo como métodos alternativos de extracción de aceites (Taha y Hassanein, 2007; De Moura, et al., 2008; Latif y Anwar, 2008; Lianzhou et al., 2011). La extracción acuosa-enzimática del aceite ha emergido como una técnica competente en ciertos materiales oleaginosos (Lianzhou et al., 2011), por la alta especificidad que tienen las enzimas y las condiciones de operación moderadas principalmente su acción a bajas temperaturas (Mojtaba y Fardin, 2013).

En los últimos años, se ha descrito diversas investigaciones referentes a la extracción acuosa de aceites vegetales asistida por enzimas, ofreciendo diversas ventajas comparadas con la extracción convencional. El objetivo principal del uso de las enzimas durante la extracción acuosa del aceite es hidrolizar la estructura de los polisacáridos que forman la pared celular de las semillas oleaginosas o las proteínas que forman la membrana celular y los cuerpos lipídicos (Taha y Hassanein, 2007; Latif y Anwar, 2008). En la actualidad existen complejos o preparados enzimáticos comerciales de grado alimenticio con actividad múltiple como celulasa, hemicelulasa y pectinasa, que se aplican a las semillas oleaginosas con la finalidad de hidrolizar los componentes de la pared celular de los tejidos (Ovando-Chacón y Waliszewski, 2005).

Cada semilla oleaginosa tiene una composición estructural específica, por lo que la elección del sistema enzimático es crítico para la eficiencia en la extracción de aceite (Yingyao et al., 2008; Amante et al., 2012; Rong et al., 2017). Por otro lado, las condiciones de reacción tales como relación sólido:líquido, pH, temperatura, concentración de enzima y tiempo de reacción, influyen sobre el grado de hidrólisis y efectividad del proceso (Taha y Hassanein, 2007). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la relación sólido:líquido sobre el rendimiento de extracción de aceite de tres semillas oleaginosas: *Oecopetalum mexicanum*, *Jatropha curcas* y *Pistacia vera*, utilizando el complejo enzimático Viscozyme L.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de cacaté (*Oecopetalum mexicanum*), de piñón (*Jatropha curcas*) y de pistacho (*Pistacia vera*) fueron adquiridas en el mercado del municipio de Tecpatán, Chiapas. Semillas enteras sin daño visual fueron seleccionadas para todos los tratamientos (Sant'Anna et al., 2003) las cuales fueron empacadas en bolsas negras y almacenadas a 4 °C hasta su utilización. La testa fue eliminada manualmente y posteriormente, la semilla se molió y tamizó hasta un tamaño de partícula de 0.841 mm y finalmente dispuesto en frascos color ámbar y almacenadas a 4 °C hasta su uso (Guerra y Zúñiga, 2003; Belén-Camacho et al., 2005). Antes de todas las pruebas, las semillas fueron equilibradas en temperatura manteniéndolas durante 12 horas a temperatura ambiente.

Para realizar la extracción del aceite, 5 g de las semillas molidas fueron sumergidas en agua (según la relación sólido:líquido del tratamiento) contenida en un matraz Erlenmeyer durante 24 h con la finalidad de hidratar las semillas, posteriormente se adicionó el complejo enzimático Viscozyme L al 2%. Los matraces se mantuvieron en agitación a 200 rpm durante 4 h a temperatura de 30 °C. El aceite fue extraído de las semillas utilizando diferentes relaciones sólido: líquido (1:3, 1:4, 1:5 y 1:6 p/v). Posteriormente, los matraces fueron sometidos a un tratamiento térmico mediante inmersión del matraz en un baño de agua a 100 °C durante 5 min, seguido de un baño frío por 5 min para inactivar la enzima. Para recuperar el aceite, las muestras se sometieron a centrifugación durante 25 min a 20,000 rpm y en refrigeración (4 °C). El aceite obtenido fue pesado con la finalidad de calcular el rendimiento de proceso. Todos los tratamientos fueron realizados por triplicado. El rendimiento de

proceso fue calculado con la ayuda del contenido inicial de aceite en los granos. Este fue determinado mediante extracción con hexano en equipo Soxhlet durante 6 h de reflujo (AOAC, 1998).

Una vez encontrada la relación sólido:líquido que maximizó el rendimiento de extracción de aceite, se realizaron las cinéticas de 7 h mediante la toma de muestra cada 30 min.

Se estableció un diseño unifactorial completamente aleatorizado para evaluar el efecto de la relación sólido:líquido. Se realizó un análisis de varianza y la comparación de las medias fueron analizadas con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Cada tratamiento se realizó por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo de investigación se estudió la influencia de la relación sólido:líquido sobre el porcentaje de extracción del aceite observándose que esta tiene un efecto significativo ($P \leq 0.05$) sobre los rendimientos de extracción del aceite independientemente de la semilla empleada. En el Cuadro 1 se presentan los rendimientos de extracción del aceite para las tres semillas. Los resultados presentados en el Cuadro 1 muestran que para las tres semillas, la relación 1:5 y 1:6 p/v son las que maximizaron los rendimientos de extracción de aceite, con una relación inferior se obtuvieron menores rendimientos estos resultados concuerdan con lo reportado por Lianzhou et al. (2011) quienes evaluaron la relación sólido:agua en la extracción enzimática del aceite de semilla de pino. Rendimientos de extracción similares fueron reportados para *Jatropha curcas* empleando una combinación de cuatro complejos enzimáticos: Pectinex Ultra SP-L, Promozyme, Cellulase y Protizyme (Gupta et al., 2005), para *O. mexicanum* no se ha reportado la extracción del aceite empleando enzimas solamente existe un estudio en donde se menciona que su contenido de grasa total es de 60% (Jiménez et al., 2013), para *Pistacia khinjuk* los autores Mojtaba y Fardin (2013) reportaron rendimientos de hasta 51.5 y 54.6% empleando una relación de 1:6 p/v

y las enzimas proteasa y α -amilasa respectivamente a las 16 h de incubación enzimática.

La relación sólido:líquido es un factor importante debido a que se requiere de la interacción enzima-sustrato para que ésta actúe sobre la estructura de la semilla mejorando los rendimientos de extracción de aceite (Lianzhou et al., 2011). Sin embargo, es importante encontrar la relación que maximice la extracción. Picuric-Jovanovic et al. (1997) mencionan que una adecuada relación sólido:líquido permitirá el acceso de la enzima a la pared celular de la semilla oleaginosa ya que permite la difusión de la enzima hacia el sustrato. Soluciones muy diluidas dificultan la separación del aceite debido a que se favorece la formación de una emulsión estable (De Moura et al., 2008), observándose disperso el aceite en el agua en forma de gotas muy pequeñas.

El rendimiento promedio en la extracción de aceite de las semillas por el método Soxhlet fue de 40, 58 y 50% para cacaté (*Oecopetalum mexicanum*), piñón (*Jatropha curcas*) y de pistacho (*Pistacia vera*), respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Makkar et al. (1998) para el piñón (55-62%) quienes utilizaron el método de Soxhlet. En el caso del cacaté, el resultado del rendimiento de extracción (40%) es superior a lo reportado por Centurión et al. (2000) quienes mencionan un contenido de grasa de 30.7% pero inferior a lo reporta-

do por Jiménez et al. (2013) que fue de 60%, mientras que Woodroof (1979) reportó valores superiores a los nuestros (50%) para el pistacho (54.70-58.30%). La variación podría deberse a las condiciones de extracción del aceite (So-

lís-Fuentes et al., 2001), la localización geográfica de la zona de recolección, la época de cosecha y los cambios climáticos durante el cultivo (Matos y Acuña, 2010).

Si comparamos los rendimientos en la extracción del aceite podemos observar que la extracción enzimática es mejor para el caso del cacaté pero resultó tener menor rendimiento de extracción para piñón y pistacho. Las diferencias de la eficiencia del complejo enzimático podría deberse a que las semillas oleaginosas tienen

Cuadro 1. Rendimiento de extracción del aceite de semilla de cacaté (*Oecopetalum mexicanum*), de piñón (*Jatropha curcas*) y de pistacho (*Pistacia vera*).

Relación sólido:líquido	Porcentaje de rendimiento de extracción		
	<i>J. curcas</i>	<i>O. mexicanum</i>	<i>P. vera</i>
1:3	39.1±0.08 ^b	6.0±0.01 ^c	6.0±0.1 ^b
1:4	25.3±0.09 ^c	16.0±0.10 ^b	6.7±0.2 ^b
1:5	45.5±0.15 ^a	55.3±0.15 ^a	12.0±0.2 ^a
1:6	45.7±0.60 ^a	52.0±0.20 ^a	11.3±0.1 ^a

*Letras distintas en cada columna (para cada especie oleaginosa) indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey; $P \leq 0.05$).

diferente composición lignocelulósica. Viscozyme L es un complejo enzimático con múltiples actividades principalmente celulasa aunque también contiene hemice-lulasa, xilanasa, arabanasa y β -glucanasa. La actividad celulasa rompe la estructura de la pared celular del cotiledón mejorando la permeabilidad de las paredes celulares de las semillas provocando una hidrólisis parcial de la pared celular, facilitando de esta forma la liberación del aceite. En este estudio la semilla de *J. curcas* presentó un contenido de celulosa de $40.87 \pm 0.334\%$ mientras que la semilla de *O. mexicanum* presentó menor contenido siendo de $35.24 \pm 1.39\%$; para *Pistacia vera* no fue determinado.

En relación a las cinéticas de extracción (Figura 1, 2 y 3) éstas siguieron un comportamiento típico, ya que conforme se incrementó el tiempo de hidrólisis enzimática de las semillas los gramos de aceite extraídos también aumentaron, obteniéndose alrededor de las 6 h de extracción acuosa-enzimática el equivalente a un 89.5% de rendimiento de extracción del aceite de *Jatropha curcas* y a las 7 h se obtuvo un 71.2% de rendimiento de extracción del aceite de *Oecopetalum mexicanum*, siendo estos rendimientos los máximos porcentajes de extracción obtenidos. Con *Pistacia vera* el máximo porcentaje de extracción obtenido fue sólo del 12% a las 4 h de hidrólisis enzimática de las semillas, lo cual puede ser atribuido a la naturaleza química de la semilla.

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que en el proceso de extracción acuoso-enzimático de semillas oleaginosas, la relación sólido:líquido tiene un efecto significativo sobre el rendimiento de extracción, así mismo el complejo enzimático Viscozyme L es una opción viable para obtener buenos rendimientos de extracción de aceite de *Jatropha curcas* y *Oecopetalum mexicanum*. Sin embargo, en relación a *Pistacia vera* aunque la relación sólido:líquido si tuvo un efecto significativo, el rendimiento de extracción fue muy bajo empleando el complejo enzimático Viscozyme L.

LITERATURA CITADA

Amante E. R., Rovaris A. A., Odebrecht C. D., Pedroso I. D. C., Cirra R. M. S., de Francisco A., Petkowicz C. L. O. 2012. Chemical composition of solid waste and effect of enzymatic oil extraction on the microstructure of soybean (*Glycine max*). Industrial Crops and Products 36: 405-414.

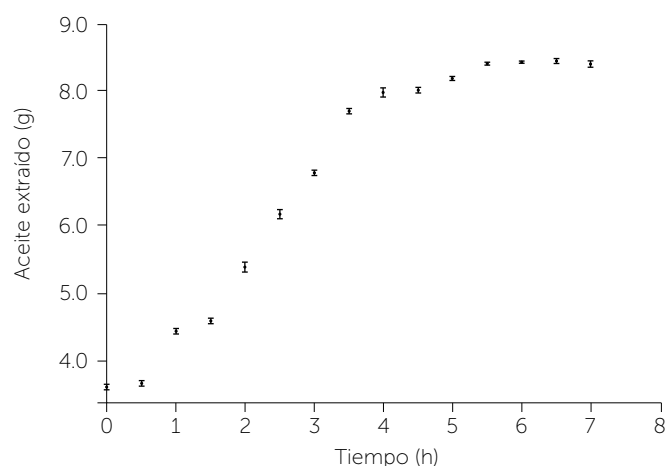


Figura 1. Cinética de extracción del aceite de piñón (*Jatropha curcas*) empleando el complejo enzimático Viscozyme L.

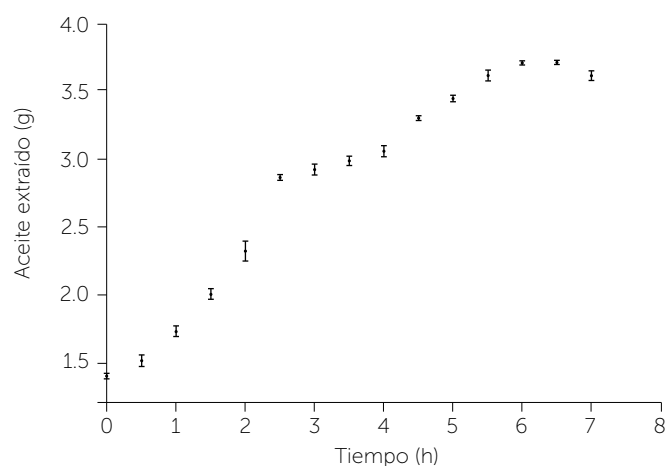


Figura 2. Cinética de extracción del aceite de cacaté (*Oecopetalum mexicanum*) empleando el complejo enzimático Viscozyme L.

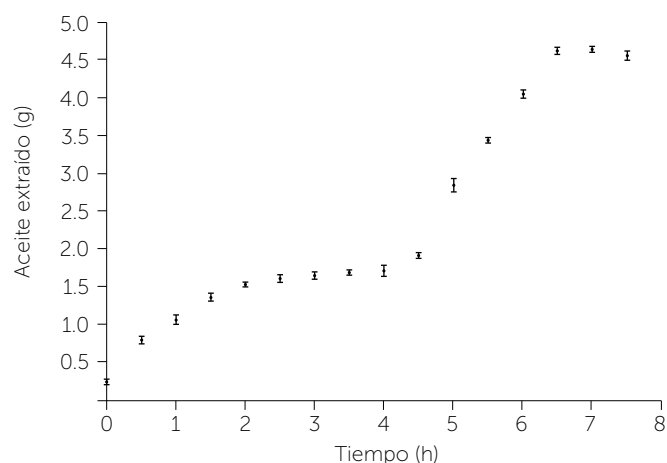


Figura 3. Cinética de extracción del aceite de pistacho (*Pistacia vera*) empleando el complejo enzimático Viscozyme L.

- Belén-Camacho D. R., López I., García D., González M., Moreno-Álvarez M. J., Medina C. 2005. Evaluación fisicoquímica de la semilla y del aceite de corozo (*Acrocomia aculeata* Jacq). *Grasas y Aceites* 56: 311-316.
- Centurión H. D., Espinoza M. J., Cázares C. J. G. 2000. Catálogo de plantas de uso alimentario tradicional en la región sierra del estado de Tabasco. Fundación Produce Tabasco-ISPROTAB, México. pp. 1, 15, 23, 25, 26.
- De Moura J. M. L. N., Campbell K., Mahfuz A., Jung S., Glatz C. E., Jhonson L. 2008. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from soybeans and cream de-emulsification. *Journal of American Oil Chemists' Society* 85: 985-995.
- Guerra E. G., Zúñiga M. E. 2003. Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinífera*, por prensado en frío. *Grasas y Aceites* 54: 53-57.
- Gupta M. N., Shah S., Sharma A. 2005. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction. *Bioresource Technology* 96: 121-123.
- Jiménez M., Hernández B., Luna G., García O., Mendoza M. R., Azuara E., Beristain C. I. 2013. Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil. *Industrial Crops and Products* 43: 355-359.
- Latif S., Anwar F. 2008. Quality assessment of *Moringa concanensis* seed oil extracted through solvent and aqueous-enzymatic techniques. *Grasas y Aceites* 59: 69-75.
- Lianzhou J., Yang L., Xiaonan S., Shengnan W. 2011. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of pine kernel oil by response Surface methodology. *Procedia Engineering* 15: 4641-4652.
- Makkar H. P. S., Becker K., Schomook B. 1998. Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. *Plant Foods for Human Nutrition* 52: 31-36.
- Matos C. A., Acuña H. J. 2010. Influencia del tiempo, tamaño de partícula y proporción sólido líquido en la extracción de aceite crudo de la almendra de durazno (*Prunus persica*). *Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 1: 1-6.
- Mojtaba A., Fardin K. 2013. Optimization of enzymatic extraction of oil from *Pistacia khinjuk* seeds by using central composite design. *Food Science and Technology* 1: 37-43.
- Ovando-Chacón S. L., Waliszewski K. N. 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia* 21: 113-122.
- Picuric-Jovanovic K., Vrbaski Z., Milovanovic M. 1997. Aqueous-enzymatic extraction of plum kernel oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 99: 433-435.
- Rong J., Wu C., Xiao Y., Lin W., Li J., Zhang S., Zhu J. 2017. Aqueous enzymatic process for cell wall degradation and lipid extraction from *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology* 223: 312-316.
- Sant'Anna B. P. M., Freitas S. P., Coelho M. A. Z. 2003. Enzymatic aqueous technology for simultaneous coconut protein and oil extraction. *Grasas y Aceites* 54: 77-80.
- Solís-Fuentes, J. A., Tapia-Santos, M., Durán-de-Bazúa, M. C. 2001. Aceite de almendra de zapote mamey, un análisis de rendimientos y condiciones de extracción. *Información Tecnológica* 12: 23-28.
- Taha F. S., Hassanein M. M. 2007. Pretreatment of cottonseed flakes with proteases and an amylase for higher oil yields. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 58: 297-306.
- Woodroof, J. G. 1979. Tree Nuts: production, processing, products: Pistachio nuts: 572-603. Avi Publishing Company Inc. Westport, Connecticut.
- Yingyao W., Zhang W., Shangwei C., Fei H. 2008. Aqueous enzymatic extraction of oil and protein hydrolysates from peanut. *Food Science and Technology Research* 14: 533-540.

